

学校编码: 10384
学号: 21620101152457

分类号__密级
UDC

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

高致病性 H5N1 型流感病毒非结构蛋白 NS1
的结构生物学研究

Structural study of non-structural protein 1 (NS1) from
highly pathogenic H5N1 influenza virus

郑倩

指导教师姓名: 林天伟 教授

专 业 名 称: 细胞生物学

论文提交日期: 2013 年 04 月

论文答辩时间: 2013 年 05 月

学位授予日期: 2013 年 07 月

答辩委员会主席:

评 阅 人:

年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

- ☒ 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 2014 年 9 月 1 日解密，解密后适用上述授权。
- ☐ 2.不保密，适用上述授权。

声明人（签名）：

年 月

摘 要

A 型流感病毒是引起流行性感冒的主要病原体，具有高度变异性，能够感染人和多种动物，常常引起流感大流行，造成严重的损失和伤亡。而其中的 H5N1 亚型具有高致病性，能够跨种族传播，引起了全球的广泛关注与重视。A 型流感病毒非结构蛋白 NS1 是其传播与感染过程中的重要毒力因子，在感染细胞中有高水平的表达，能够通过多种 RNA-蛋白相互作用和蛋白-蛋白相互作用帮助病毒复制，阻止被感染细胞凋亡以及拮抗宿主的免疫系统进攻。

NS1 蛋白全长包含两个结构域，一个是 N 端的 RNA 结合区 (RBD)，NS1 通过该结构域与病毒 mRNA 相互作用，调节病毒特异性蛋白的翻译，从而增强病毒的复制；另一个是 C 端的效应区 (ED)，NS1 通过该结构域和其他蛋白相互作用来阻断宿主 I 型干扰素 IFN 的组装，抑制干扰素诱导蛋白的激活，从而逃避或拮抗宿主的免疫系统。同时，NS1 蛋白能够与多种其他蛋白相互作用，参与细胞内多种信号通路的传导，如 NS1 能够与 Crk 家族蛋白相互作用激活 PI3K 信号通路。可以看出，NS1 作为一种多功能调节蛋白，对流感病毒的毒性起着至关重要的作用。因此解析 H5N1 亚型 NS1 蛋白全长的晶体结构以及其与相互作用蛋白复合物的晶体结构对于我们进一步了解 A 型流感病毒的致病机制具有重要意义，为研究开发更有效的流感病毒抑制剂提供结构生物学依据。

本课题中我们通过分子克隆技术，将 NS1 蛋白的全长野生型基因序列和突变型基因序列构建到原核表达载体 pGEX-4T-1 和 pET-28a 中。采用原核表达系统重组表达可溶的目的蛋白，提取后采用亲和层析和凝胶排阻层析对目的蛋白进行纯化，获得高纯度高浓度的目的蛋白，最后通过蒸汽扩散法对目的蛋白进行结晶条件的初筛。同时，进行了 NS1 蛋白与 Crk I 蛋白的相互作用复合物的纯化实验。

关键词： A 型流感病毒；NS1 蛋白；结构生物学

ABSTRACT

As one main type of human influenza pathogens, influenza A virus can infect human beings and various kinds of animals with a potential to give rise to human influenza pandemics causing serious casualties and damage. The highly pathogenic H5N1 is one subtype of influenza A virus and has infected not only poultry, but also human beings, often with lethal results. H5N1 has been spreading to many countries and causing global concern. The non-structural (NS1) protein of influenza A virus is an important virulence factor during viral infection and spread. NS1 has a high level expression in infected cells and plays an important role in virus replication, prevention to apoptosis of infected cell and inhibition of host immune responses through multiple RNA-protein and protein-protein interactions.

NS1 consists of two domains. One of them is the N-terminal double-stranded RNA-binding domain (RBD) with which NS1 regulates some virus-specific protein translation to enhance viral replication through the interaction with virus mRNAs. The other is the C-terminal effector domain (ED) and NS1 can help virus evade or antagonize the host IFN immunity by blocking the assembly of IFN as well as inhibiting activation of IFN-induced proteins with this domain. At the same time, NS1 participates in many different kinds of signal transduction pathways through multiple interactions with other proteins and the interaction between NS1 and Crk family proteins can active the PI3K signaling pathway. As we can see, NS1 is a key multifunctional protein for influenza virulence. So that structural analysis of NS1 and its complex with other proteins will be helpful for understanding the mechanism of influenza virus causing disease and provides a structural basement for research and development of effective viral inhibitors.

In this study, we cloned both native and mutant NS1 with vectors pGEX-4T-1 and pET-28a. Recombinant NS1 was expressed using prokaryotic expression system and purified with affinity chromatography and gel filtration chromatography. Finally we got NS1 protein of high purity and high concentration and screened for suitable crystallization conditions by vapour diffusion. And we have done some interaction experiments between NS1 and Crk I to get the complex.

Key Words: Influenza A virus; non-structural protein1 (NS1); structural biology.

目 录

摘 要.....	I
ABSTRACT.....	II
目 录.....	错误！未定义书签。
Contents	错误！未定义书签。
1 前言	1
1.1. 流行性感 冒概述.....	1
1.1.1. 流感的历史.....	1
1.1.2. 流感的危害与防治.....	2
1.2. 流感病毒	3
1.2.1. 流感病毒的概述.....	3
1.2.2. 流感病毒的分类.....	5
1.2.3. 流感病毒的变异特征.....	6
1.2.4. 流感疫苗和抗流感药物.....	6
1.3. 流感病毒非结构蛋白 NS1.....	8
1.3.1. NS1 蛋白概述.....	8
1.3.2. NS1 蛋白 RNA binding domain (RBD)	10
1.3.3. NS1 蛋白 Effector domain (ED)	12
1.3.4. NS1 蛋白全长的结构研究.....	16
1.4. 流感病毒非结构蛋白 NS1 的功能研究.....	17
1.4.1. NS1 蛋白能够增强病毒的 mRNA 的翻译	18
1.4.2. NS1 蛋白能够阻断细胞增 mRNA 的成熟	19
1.4.3. NS1 蛋白能够拮抗宿主免疫系统.....	19
1.4.4. NS1 蛋白能够激活 PI3K 信号通路	20
1.5. 流感病毒非结构蛋白 NS1 与 Crk 家族蛋白相互作用.....	20
1.5.1. Crk 家族蛋白	20

1.5.2.	NS1 蛋白与 Crk 家族蛋白相互作用.....	22
1.6.	本课题的研究目的及意义.....	23
2.	实验材料与方法.....	25
2.1.	实验材料.....	25
2.1.1.	质粒和菌株.....	25
2.1.2.	常用试剂.....	25
2.1.3.	主要仪器.....	26
2.1.4.	培养基和主要溶液的配制.....	28
2.2.	实验方法.....	34
2.2.1.	目的基因的克隆.....	34
2.2.2.	目的蛋白的诱导表达及检测.....	42
2.2.3.	目的蛋白的大量表达.....	43
2.2.4.	目的蛋白的纯化.....	44
2.2.5.	目的蛋白的结晶.....	48
3.	实验结果.....	50
3.1.	4T-1-TEV-NS1 的克隆表达及纯化.....	50
3.1.1.	目的基因的扩增及回收.....	50
3.1.2.	载体的酶切与片段回收.....	50
3.1.3.	pGEX-4T-1-TEV-NS1 阳性克隆的鉴定.....	51
3.1.4.	4T-1-TEV-NS1 的表达与纯化.....	52
3.1.5.	4T-1-TEV-NS1 的酶切与纯化.....	52
3.2.	pET28a- NS1 克隆表达及纯化.....	56
3.2.1.	目的基因的扩增及回收.....	56
3.2.2.	载体的酶切与片段回收.....	56
3.2.3.	pET28a- NS1 阳性克隆的鉴定.....	57
3.2.4.	pET28a- NS1 的诱导表达.....	58
3.2.5.	pET28a- NS1 的纯化.....	59
3.2.6.	28a-NS1 (Nco I /Xho I) 的结晶.....	61
3.3.	pET28a- NS1 (T49E) 的克隆表达及纯化.....	61
3.3.1.	定点突变.....	61

3.3.2.	NS1 (T49E) 的表达与纯化.....	62
3.3.3.	NS1 (T49E) 的动态光散射.....	64
3.3.4.	NS1 (T49E) 的结晶.....	65
3.4.	NS1 与 Crk I 相互作用实验.....	65
3.4.1.	pET28a-Crk I 的克隆与表达.....	65
3.4.2.	4T-1-TEV-NS1 与 pET28a-Crk I 的 pull-down 实验.....	67
3.4.3.	4T-1-TEV-NS1 与 pET28a-Crk I 的共破碎和共表达实验.....	68
3.4.4.	pET28a-ED 与 pET28a-n-SH3 的相互作用实验.....	70
4.	分析与讨论.....	76
5.	小结.....	78
	参考文献.....	79
	附录.....	85
	致 谢.....	87

Contents

Abstract in Chinese.....	I
Abstract in English	II
Contents in Chinese	错误！未定义书签。
Contents in English.....	错误！未定义书签。
1 Introduction	1
1.1. Overview of influenza	1
1.1.1. History of influenza	1
1.1.2. Damage and prevention and treatment of influenza	2
1.2. Influenza virus	3
1.2.1. Overview of influenza virus.....	3
1.2.2. Clasification of influenza virus.....	5
1.2.3. Variation features of influenza virus.....	6
1.2.4. Current research status of influenza vaccine and antiviral drug	6
1.3. Non-structural protein 1 of influenza virus	8
1.3.1. Overview of non-structural protein1(NS1)	8
1.3.2. RNA binding domain of NS1(RBD).....	10
1.3.3. Effector domain of NS1(ED)	12
1.3.4. Structural study of NS1	16
1.4. 流感 Functional study of non-structural protein 1.....	17
1.4.1. NS1 can enhance the translation of viral mRNA.....	18
1.4.2. NS1 can prevent the maturity of cellular mRNA.....	19
1.4.3. NS1 can antagonistic to host immune system.....	19
1.4.4. NS1 can active the PI3K signaling pathway	20
1.5. Interaction between NS1 and Crk family proteins.....	20
1.5.1. Crk family proteins	20
1.5.2. Interaction between NS1 and Crk family proteins.....	22
1.6. Purpose and significance of research.....	23

2. Materials and methods.....	25
2.1. Materials.....	25
2.1.1. Plasmids and strains	25
2.1.2. Common reagents	25
2.1.3. Main instruments.....	26
2.1.4. Preparation of culture medium and major solution.....	28
2.2. Methods	34
2.2.1. Cloning of objective gene	34
2.2.2. Expression and detection of objective protein	42
2.2.3. Large-amount expression of objective protein.....	43
2.2.4. Purification of objective protein	44
2.2.5. Crystallization of objection protein.....	48
3. Results.....	50
3.1. Cloning, experssion and purification of 4T-1-TEV-NS1	50
3.1.1. PCR and recovery of objective gene.....	50
3.1.2. Digestion and recovery of vector	50
3.1.3. Identification of recombinant plasmid 4T-1-TEV-NS1	51
3.1.4. Expression and purification of fusion protein 4T-1-TEV-NS1	52
3.1.5. Digestion and purification of 4T-1-TEV-NS1	52
3.2. Cloning, purification and crystallization of pET28a-NS1	56
3.2.1. PCR and recovery of objective gene.....	56
3.2.2. Digestion and recovery of vector	56
3.2.3. Identification of recombinant plasmid pET28a-NS1	57
3.2.4. Expression of protein pET28a-NS1	58
3.2.5. Purification of pET28a-NS1	59
3.2.6. Crystallization of pET28a-NS1(Nco I /Xho I)	61
3.3. Cloning, purification and crystallization of pET28a-NS1(T49E)	61
3.3.1. Point mutation	61
3.3.2. Expression and purification of protein NS1(T49E)	62
3.3.3. Dynamic light scattering of protein NS1(T49E).....	64
3.3.4. Crystallization of protein NS1(T49E).....	65
3.4. Interaction expriments between NS1 and Crk I	65

3.4.1.	Cloning and expression of pET28a-Crk I	65
3.4.2.	Pull-down experiments between 4T-1-TEV-NS1 and pET28a-Crk I	67
3.4.3.	Co- ultrasonication and co-expression experiments between 4T-1-TEV-NS1 and pET28a-Crk I	68
3.4.4.	Interaction experiments between pET28a-ED and pET28a-n-SH3	70
4.	Discussion.....	76
5.	Conclusion	78
	References	79
	Appendix.....	85
	Acknowledge.....	87

1 前言

1.1. 流行性感概述

流行性感冒（Influenza）简称流感，是由流感病毒引起的一种感染鼻、咽喉和肺部的急性呼吸道传染病，主要通过呼吸道飞沫进行传播，如咳嗽和打喷嚏等方式或通过与被污染物品的直接接触也可以传播。流感具有易感性和传染性，且潜伏期短，具有季节性流行的特点，秋冬季节为其高发期。其临床症状主要表现为急起高热、头痛乏力，肌痛或全身痛，而鼻塞流涕和咳嗽喷嚏等其它症状相对较轻。并发症包括细菌性肺炎、中耳炎、鼻窦炎和慢性心肺疾病的加重等，本病具有自限性，但婴幼儿、老年人和存在心肺基础疾病的患者容易因并发症而死亡。流感传染性强，发病率高，容易引起大暴发或大流行，自 20 世纪以来，流感病毒从未停止传播肆虐，堪称人类的宿敌。历史上曾发生过的流感大爆发给人类带来了严重的损失和伤亡，然而当下各种亚型的流感病毒致死的事件在全球范围内时有报道，WTO 指出，下一次流感大爆发不是有和无的问题，而是早和晚的问题，但目前已有的流感疫苗和抗流感药物明显不足以应对随时可能到来的流感大爆发。因此，有关流感病毒的病毒学特征、致病机制、诊断和预防等的研究日益显得紧迫和重要。

1.1.1. 流感的历史

自 1580 年人类首次对流感爆发有详尽记载以来，流感的大爆发呈现周期性特征，一般为二三十年爆发一次，最长的间隔为 39 年。人类历史上共有四次流感大爆发^[1-3]，其中 1918 年由 H1N1 型流感病毒引发的“西班牙流感”爆发，病例首先在美国发现，并在一年时间内传播至全球范围，共有约世界一半人数感染患病，当时公共医疗卫生条件有限，最终有 2000 万-5000 万人死亡，数量远远多于第一次世界大战所致的死亡人数，所造成的灾难是流感流行史上最严重的一次也是历史上死亡人数最多的一次^[4]。1918 年西班牙流感中的 H1N1 型流感病毒是现代流感病毒的“祖先”，在随后的一个世纪，包括 H2N2、H3N2、H5N1、H9N2 和 H7N2 等亚型在内的流感病毒开始感染人类并大肆传播^[5]，这些病毒都保留了 1918 年 H1N1 型的部分基因。1957-1958 年的亚洲流感（H2N2 型病毒）2 月首发于中国贵州，3、4 月间席卷中国，5 月到 6 月袭击了日本及东南亚各国，7 月

到8月流行于中东、非洲，半年内传播至全世界。这次大流感造成全球至少100万人死亡^[6]。接下来是1968至1969年的“香港流感”（H3N2型病毒），这场流感至少波及世界55个国家和地区，造成全球约150万-200万人死亡。1977年至1978年，“俄罗斯流感”在前苏联流行。引发此次流感流行的致病病毒为1950年流行的H1N1病毒株的变异体。因此，在该病毒株流行期生活过的人，对于1977-1978年再次出现的甲型流感病毒H1N1病毒株感染具有免疫力和抵抗力。所以，绝大多数有关1977-1978年流感流行的报告均指出，尽管此次流行为典型的爆发流行，但成年人均为轻微感染^[7]。2009年4月开始，墨西哥、美国等地相继发生了人感染“猪流感”（即新型甲型H1N1）的事件。此后，疫情迅速蔓延到世界各地，世界卫生组织于当年6月12日宣布将此次流感大流行警告升至六级，意味着甲型H1N1流感全球大爆发^[8]。

全球首个感染H5N1禽流感病毒死亡的病例是1997年8月于香港报告的^[9]，自2003年起，H5N1亚型流感病毒感染人类并致死的事件时有发生报道，截至2005年11月25日，全球已向世界卫生组织报告132例人感染病例，其中68例死亡，死亡率超过50%。2011年9月底，世界农粮组织（FAO）报告称，“禽流感H5N1病毒已出现变异”，目前正在亚洲等地扩散，有可能严重威胁人类健康^[10]。近两年内新发生H5N1感染的国家数量不断增多，持续发生的国家有韩国、澳大利亚、中国、日本、以色列、荷兰、越南等等^[11]。而最近，H7N9亚型禽流感正在我国传播，确诊病例数量不断上升，且已有致死病例报道。由于流感病毒的多变性、致病性以及造成巨大损失的可能性，使得流感病毒的研究备受各国高度关注。我国作为一个人口密集的流行性感的高发地区，对于流感病毒的研究愈发重要和紧迫。

1.1.2. 流感的危害与防治

流感对于个人、家庭乃至整个社会都会造成严重的危害。禽流感病毒能够引发禽类流感，导致家禽死亡或者遭到大规模捕杀，直接给人类经济带来了巨大的损失。其次，老年人、中年人（患心血管、糖尿病和免疫能力低下等慢性疾病的）和儿童是流感的易感人群和高危人群，主要是受到流感并发症的危害，甚至造成死亡^[12]。据世界卫生组织统计，全球每年有300-500万病例出现由流感导致的并发症，25-50万人死亡，其中老年人和患有慢性疾病的中年人居多，而由此导致的生产率下降也会造成间接经济损失。而且研究表明，流感病毒存在种属特异性，

人们曾一度认为人类不会感染禽流感病毒。然而，1997 全球首宗人类感染 H5N1 的个案，是首次发现禽流感病毒跨过种属障碍，直接从鸟类传染给人的例子。直到此时，人们才意识到高致病性禽流感（HPAI）H5N1 型病毒具有人畜共患的能力^[13]。高致病性 H5N1 型病毒不断地传播进化，一方面在禽类中引起大规模的禽流感，另一方面也使更多的人因接触病禽而致病，甚至死亡^[14]。

流感肆虐的危害巨大，但目前尚没有有效的防治手段。流感为乙类法定报告的传染病。我国卫生部指出，预防流感的关键是培养“预防导向型”健康习惯，对于病毒传染病，预防最为关键。预防的主要手段是疫苗接种，当流感在人群中爆发，具有在人群中传播能力的时候，应尽可能大量生产疫苗，疫苗接种可以减少感染流感的机会，减轻流感症状和并发症，保护自己的同时保护他人。在条件允许的情况下，紧急进行全人群接种。应急免疫接种是减小流感危害最有效的方法，但要确保疫苗组分的抗原性与引起流感爆发的毒株相匹配，否则疫苗无效。目前还没有治疗流感的特效药物，主要是对症治疗。此外在流感高发期，生活预防也不容忽视。

1.2. 流感病毒

流行性感冒病毒，简称流感病毒，是造成人类及动物患流行性感冒的病原体。流感病毒一般通过空气飞沫传播，随后粘附在呼吸道的粘膜上。它能够穿透呼吸道外表面的黏液层，进入呼吸道上皮细胞和其他类型的细胞。当呼吸道粘膜上皮细胞被流感病毒感染后，其清除和黏附异物的能力会降低，导致机体抵御呼吸道感染的能力也随之降低。因此，流感病毒经常会造成继发性感染，继发性肺炎是流感致死的主要死因之一。流感病毒具有极强的传染性，在世界范围内常会有周期性的大流行。人流感病毒最早由 Smith, Andrewes 和 Laidlaw 于 1933 年从感染人流感病毒的雪貂中分离得到^[15]。

1.2.1. 流感病毒的概述

流感病毒是一类 RNA 病毒，属于正黏液病毒科（Orthomyxoviridae）。流感病毒颗粒一般为球形，直径多在 80-120nm 之间，丝状流感病毒的长度最多可达 400nm。流感病毒从外到内由外膜、基质蛋白以及核衣壳三部分组成，8 段长短不一的单链 RNA 构成其基因组，每个节段编码 1~2 种蛋白^[16]（见图 1-1）。

病毒外膜包膜是包裹在基质蛋白之外的一层磷脂双分子层膜，这层膜来源于

宿主的细胞膜，成熟的流感病毒从宿主细胞出芽，将宿主的细胞膜包裹在自己身上之后脱离细胞，去感染下一个目标。除了磷脂分子之外，外膜上还有两种非常重要的糖蛋白：血凝素（Hemagglutinin, HA）和神经氨酸酶（Neuraminidase, NA）。这两类蛋白突出病毒体外，被称作刺突。一般一个流感病毒表面会分布有 500 个血凝素刺突和 100 个神经氨酸酶刺突。这些糖蛋白是流感病毒抗原结构的主要成分，并且甲型流感病毒中两者的抗原性会发生变化，是区分病毒毒株亚型的依据，同时也是流感疫苗的重要组成部分^[17]。

血凝素蛋白 HA 是病毒表面的抗原糖蛋白，呈柱状，能与入、鸟、猪等动物红细胞表面的受体相结合引起凝血，因而称为血凝素。HA 是一种杆球形蛋白分子，共有 17 种亚型，包含四部分：胞内尾巴、穿膜区、颈部和头部^[18]。病毒感染的第一步是吸附到宿主细胞表面，HA 通过与位于细胞膜上糖蛋白或糖脂链末端的唾液酸相互作用而结合于靶细胞，经吞饮作用进入细胞浆，形成吞噬小泡，一旦病毒与小泡内的酸性溶酶体发生融合，这就使流感病毒周围的 pH 值下降到 5，导致 HA 的构型发生很大变化，促使病毒囊膜与吞噬泡膜融合并破裂，病毒核酸 RNA 释放到细胞浆内，进而开始病毒转录、翻译及加工过程^[19]。禽流感病毒具有严格的吸附特异性，HA 吸附位点和细胞受体的结构是决定禽流感病毒宿主特异性的主要因素^[20,21]。同时有研究表明，流感病毒 HA 核苷酸序列和氨基酸序列对于病毒毒力的影响也是很关键的^[22]。神经氨酸酶（NA）是呈蘑菇状的四聚体糖蛋白，具有水解唾液酸的作用。成熟的病毒颗粒要以出芽的形式脱离宿主细胞的时候，血凝素会通过唾液酸仍与宿主细胞保持联系，这时需要神经氨酸酶将唾液酸水解，切断病毒粒与宿主细胞的最后联系，保证病毒颗粒的释放。同时，神经氨酸酶对加速病毒在呼吸道的传播有重要的作用^[23]。

基质蛋白（Matrix protein, M1）位于外膜的内部，构成了病毒的外壳骨架。病毒骨架中除了基质蛋白（M1）之外还有膜蛋白（M2）。M2 蛋白数量很少，具有离子（主要是 Na^+ ）通道和调节膜内 pH 值的作用^[24]。基质蛋白与病毒最外层的外膜紧密结合，起到保护病毒核心和维系病毒空间结构的作用。当流感病毒在宿主细胞内繁殖完成之后，基质蛋白是分布在宿主细胞膜内壁上的，成熟的病毒核心能够识别细胞膜上含有基质蛋白的部位，与之结合形成病毒粒，并以出芽的形式释放出成熟的病毒粒。

核衣壳的主要成分是核糖核蛋白（RNP），以极高的密度形式存在，由 RNA 与核蛋白（Nucleoprotein, NP）相结合形成。承载了病毒遗传信息的 8 个 RNA 片段分别编码不同的蛋白，保证病毒复制的顺利进行^[25]。其中，第 1、2、3 个节段编码 RNA 多聚酶 Polymerase B2（PB2），Polymerase B1（PB1）和 Polymerase A（PA），第 4 个节段编码血凝素（HA）；第 5 个节段编码核蛋白（NP），第 6 个节段编码神经氨酸酶（NA）；第 7 个节段编码基质蛋白（M1 和 M2），第 8 个节段编码非结构蛋白（Nonstructural protein, NS1 和 NS2）。

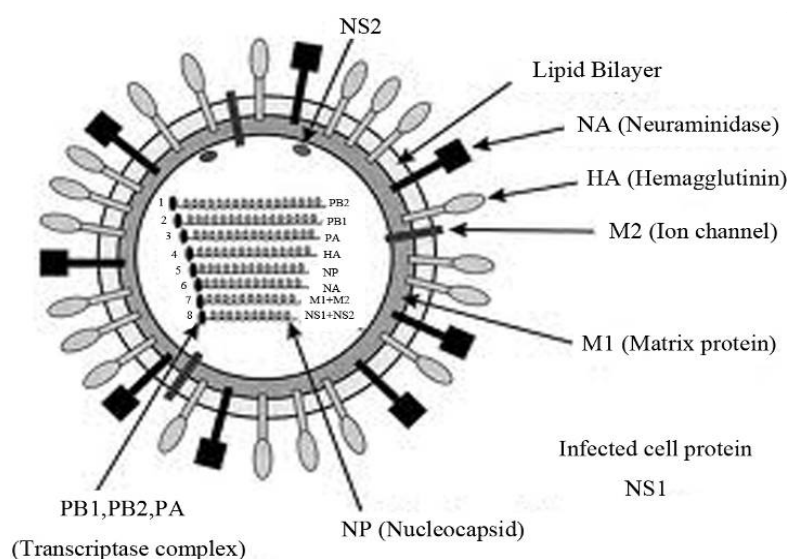


图 1-1. A 型流感病毒结构示意图

Fig.1-1. A schematic diagram of the structure of the influenza A virus.

资料来源：Lamb, R.A. and R.M. Krug. Orthomyxoviruses. 2001.

1.2.2. 流感病毒的分类

根据流感病毒感染的对象，可以将病毒分为人类流感病毒、猪流感病毒、马流感病毒以及禽流感病毒等，其中人流感病毒根据其核蛋白和基质蛋白的抗原性可以分为三类^[26]：甲型流感病毒（Influenza A virus），又称 A 型流感病毒；乙型流感病毒（Influenza B virus），又称 B 型流感病毒；丙型流感病毒（Influenza C virus），又称 C 型流感病毒。其中 A 型流感病毒能够感染人、猪、马和禽类，病毒抗原性易发生变异，多次引起世界大流行；B 型流感病毒仅感染人类，致病能力较低；C 型流感病毒主要感染人和猪，引起人类不明显的或轻微的上呼吸道感染，很少造成流行。根据流感病毒表面 17 种不同的血凝素（HA）（H1-17）和 10 种神经氨酸酶（NA）（N1-10）抗原性不同，又可将 A 型流感病毒分为不同的

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”. Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库